

Udział niedoboru glikozylacji w patologii wątroby na przykładzie wrodzonych zaburzeń glikozylacji (CDG), galaktozemii i fruktozemii

The contribution of glycosylation deficiency to liver pathology – an example of congenital disorders of glycosylation (CDG), galactosemia and fructosemia

Maciej Adamowicz¹, Piotr Socha²

¹ Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, Instytut „Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

² Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Immunologii, Instytut „Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

Summary: Glycosylation is a common modification of proteins. Sugar glycans attached to protein by N- or O-glycoside bond are responsible for many important functions of plasma, cell membrane, connective tissue and other glycoproteins. Deficit of glycosylation characterizes the group of inborn errors of metabolism named congenital disorders of glycosylation (CDG). The defects of N-glycan biosynthesis localized in different subcellular compartments within the group of 21 CDG variants, constitute the basis of complex clinical picture with prevalence of multiorgan symptoms and abnormalities of numerous laboratory parameters. The diagnosis of CDG on clinical basis is difficult due to the extreme heterogeneity of phenotypes. The biochemical hall-mark of CDG is the abnormal pattern of transferrin isoforms routinely determined in lab by isoelectric focusing (IEF) method. Deficiency of transferrin glycosylation was observed also in other inborn errors of sugar metabolism, galactosemia and hereditary fructose intolerance. Hypoglycosylation of transferrin in these diseases is transient, depends of the toxic sugars in the diet and disappears during dietary treatment. Liver disease constitutes an important part of the complex phenotypes of CDG, galactosemia and fructosemia.

Słowa kluczowe: glikozylacja • wrodzone zaburzenia glikozylacji • galaktozemia • fruktozemia • izoformy transferyny • choroba wątroby

Key words: glycosylation • congenital disorders of glycosylation • galactosemia • fructosemia • transferrin isoforms • liver disease

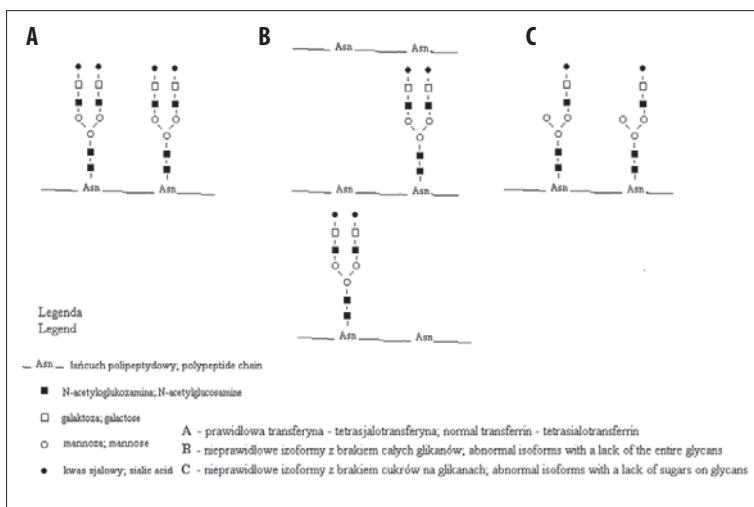
Skróty: CDG – wrodzone zaburzenia glikozylacji; LLO – pierwotny oligosacharyd związany z nośnikiem lipidowym; OST – transferaza oligosacharydowa; %CDT – transferyna z niedoborem węglowodanów; PMM – fosfomannozaza; PMI – izomeraza fosfomannozowa, IEF – elektroogniskowanie.

Adres do korespondencji: Maciej Adamowicz, Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej Instytut „Pomnik Centrum Zdrowia Dziecka, Al. Dzieci Polskich 20, 04-730 Warszawa, Polska, e-mail: Adamowiz@wp.pl

Wstęp

Glikozylacja jest najczęściej występującą potranslacyjną modyfikacją białek. Większość białek organizmu to w istocie glikoproteiny złożone z części polipeptydowej i oligosacharydowych glikanów. Glikany są przyłączone do reszt apara-

giny polipeptydu wiązaniem N-glikozydowym albo do seryn lub treonin wiązaniem O-glikozydowym. N-glikany złożone są głównie z N-acetyloglukozaminy, mannozy, galaktozy, fukozy i kwasu sjałowego. Ich synteza obejmuje kilka etapów zlokalizowanych w cytoplazmie, retikulum endoplazmatycznym (ER) i aparacie Golgiego. W procesie glikozylacji pod-



Rycina 1. Schemat transferyny prawidłowej (A) oraz transferyny z obniżoną glikozylacją, w pierwszym (B) i drugim typie CDG (C).

stawowej na fosforanie dolicholu zakotwiczone w błonie ER syntetyzowany jest pierwotny czternastocukrowy oligosacharyd (LLO) złożony z dwóch reszt N-acetylglikozaminy, dziewięciu mannoz i trzech glukozy. LLO jest przenoszony *en bloc* przez enzymatyczny kompleks transferazy oligosacharydowej (OST) na nowopowstający polipeptyd. Następnie glikoproteina poprzez transport pęcherzykowy przechodzi do aparatu Golgiego. Jeszcze w obrębie ER a następnie w aparacie Golgiego glikany podlegają procesowi glikozylacji końcowej. Polega ona na usuwaniu końcowych reszt glukozy, części mannoz oraz dodawaniu nowych cukrów, N-acetylglikozaminy, galaktozy, fukozy i kwasu sjałowego. W taki sposób zmodyfikowane N-glikoproteiny, z glikanami o różnej długości i różnym stopniu rozgałęzienia ale wspólnej strukturze rdzenia złożonego z dwóch reszt N-acetylglikozaminy i trzech mannoz, są kierowane do swoich miejsc przeznaczenia w komórce albo poza komórkę [1]. Synteza O-glikanów jest mniej skomplikowana, odbywa się w obrębie aparatu Golgiego i polega na sukcesywnym przyłączaniu do polipeptydu kolejnych cukrów, N-acetylgalaktozaminy, N-acetylglikozaminy, galaktozy, fukozy i kwasu sjałowego [2].

Glikozylacja jest powszechnie występującą modyfikacją białek a jej biologiczna rola jest niezwykle istotna w procesach rozwoju, wzrostu i funkcji organizmu. Glikany umożliwiają prawidłowe fałdowanie cząsteczek białka w obrębie ER, kierują glikoproteiny do właściwych przedziałów komórkowych albo poza komórkę, w krążeniu zabezpieczają glikoproteiny przed proteolizą i decydują o czasie ich eliminacji przez wątrobę. Biorą również udział w utrzymywaniu struktury i integralności tkanek, odpowiadają za procesy rozpoznawania komórka – komórka i komórka – substancja podstawowa oraz modulują aktywności wielu aktywnych glikoprotein jak enzymy, receptory błonowe, transportery, czynniki wzrostu i hormony [3]. Eksperymentalne zablokowanie N-glikozylacji u zwierząt laboratoryjnych jest letalne na wczesnych etapach życia płodowego [4].

Wydaje się oczywiste, że niedobory glikozylacji białek mogą zaburzać funkcję wielu narządów i tkanek stanowiąc podłoże złożonej symptomatologii klinicznej i patologii narzą-

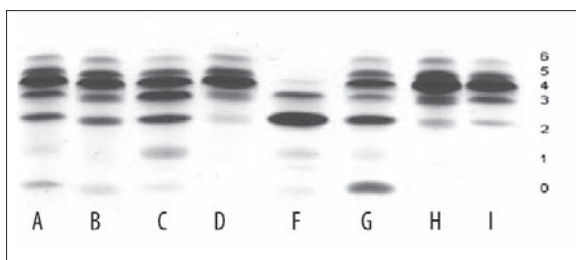
dowej. Niedobór N-glikozylacji charakteryzuje grupę uwarunkowanych genetycznie wad metabolizmu nazwanych wrodzonymi zaburzeniami glikozylacji (CDG). Defekty zlokalizowane na różnych etapach syntezy glikanów obniżają glikozylację glikoprotein zmieniając ich strukturę i zaburzając funkcję. Wyodrębnione w ostatnich latach warianty CDG różnią się lokalizacją defektu w obrębie komórki, symptomatologią kliniczną i patologią narządową. Typ I CDG z trzynastoma podtypami (CDG-Ia – CDG-IL) obejmuje defekty syntezy pierwotnego oligosacharydu (LLO) zlokalizowane w cytoplazmie i retikulum endoplazmatycznym. Do typu II, z ośmioma podtypami (CDG-IIa,b,c,d,f, COG1,7,8), zaliczane są defekty glikozylacji terminalnej zlokalizowane w ER i aparacie Golgiego oraz defekty wewnątrzkomórkowego transportu glikoprotein zaburzające również O-glikozylację. Niedobory glikozylacji o nieustalonej przyczynie są klasyfikowane jako CDG-x [5–7].

Rozpoznawanie CDG na podstawie obrazu klinicznego jest trudne a nawet niemożliwe z powodu dużego zróżnicowania fenotypów. W większości podtypów występują objawy neurologiczne i dysmorfia w połączeniu z mniej lub bardziej nasilonymi objawami narządowymi. Markerem biochemicznym większości wariantów CDG są nieprawidłowe izoformy transferyny oznaczane metodą elektroogniskowania (IEF). Profil nieprawidłowych izoform umożliwia wstępną klasyfikację wykrytych przypadków. Podwyższenie frakcji asjalo- i disjalo-transferyny, oceniane ilościowo jako %CDT [1]¹⁾, wskazuje na brak całych glikanów na transferynie, dwóch albo jednego. Jest to charakterystyczne dla defektów wczesnych etapów N-glikozylacji. Wzory izoform z podwyższeniem frakcji trisjalo- i monosjalo-transferyny odpowiadają niedoborowi końcowych cukrów na glikanie sugerując defekty glikozylacji terminalnej [8,9] (Ryciny 1,2).

Obniżenie glikozylacji transferyny występuje również w innych wrodzonych wadach metabolizmu cukrów, w galaktozemii i fruktozemii. Hipoglikozylacja transferyny w tych chorobach jest przejściowa i ustępuje w trakcie leczenia odpowiednimi dietami eliminacyjnymi [10–14]. Obniżenie glikozylacji transferyny występuje także w alkoholizmie. W chorobie alkoholowej hipoglikozylacja transferyny, o dużo

¹⁾ %CDT – ang. carbohydrate-deficient transferrin jest sumą procentowych udziałów we wzorze izoform frakcji asjalo-, monosjalo i disjalo-transferyny. Służy wyłącznie do oceny hipoglikozylacji w I typie CDG





Rycina 2. Wzory izoform transferyny w IEF: D, H, I – prawidłowe izoformy, A, B, G – nieprawidłowe izoformy w typie I CDG, C, F – nieprawidłowe izoformy w typie II CDG. 0–6 – izoformy od asjalo- do heksasjalotransferyny.

mniejszym nasileniu niż w CDG, jest przejściowa i ustępuje po dwutygodniowej abstynencji [9].

W wielu wariantach CDG oraz w galaktozemii i fruktozemii zaburzenie funkcji wątroby o zróżnicowanym nasileniu stanowi ważny komponent wielonarządowej patologii.

W pracy ograniczymy się do omówienia najczęściej wykrywanych podtypów CDG, rzadkich wariantów przebiegających z objawami ze strony układu pokarmowego, zaburzeń glikozylacji o nieustalonej przyczynie (CDG-x) z przewagą objawów ze strony wątroby oraz galaktozemii i fruktozemii.

Deficyt mutazy fosfomannozy (deficyt PMM, CDG-Ia, OMIM 212065)

Enzym katalizuje w cytozolu reakcję przemiany Man-6-P do Man-1-P. Jego niedobór obniża stężenie GDP-mannozy zaburzając syntezę pierwotnego oligosacharydu. Nieprawidłowe, krótsze LLO, są złym substratem dla OST co powoduje, że nie wszystkie asparaginy polipeptydu są glikozylowane. W efekcie glikoproteiny są pozbawione całych glikanów. W elektroogniskowaniu transferyny obserwuje się podwyższenie frakcji asjalotransferyny (izoforma transferyny bez dwóch glikanów) i frakcji dijsjalotransferyny (izoforma z jednym glikanem) (Rycina 2).

Deficyt PMM, z ponad 500 przypadkami, jest najczęściej rozpoznawanym wrodzonym zaburzeniem glikozylacji, głównie w krajach europejskich [8,15–18]. Symptomatologia choroby jest zróżnicowana i zależy od wieku pacjentów. W okresie noworodkowym i niemowlęcym występują często zagrożające życiu, objawy ze strony wielu układów. W okresie dziecięcym i młodzieńczym przeważa ataksja w wyniku atrofii mózdzku i neuropatia obwodowa z zanikiem mięśni kończyn dolnych oraz upośledzenie rozwoju ruchowego i intelektualnego. Okres wieku dorosłego charakteryzuje trwałe inwalidztwo z utrwaloną ataksją, niedobór wzrostu, zniekształcenia kośćca i hipogonadyzm u kobiet.

Większość dzieci rodzi się o czasie, po ciąży bez powikłań i normalnym porodzie. Ocena w skali Apgar jest zadawalająca, masa ciała jest zwykle w normie jednak u wszystkich noworodków występuje wiotkość tułowia. U części pacjentów obserwuje się zmiany w rozłożeniu tłuszczu w tkance podskórnej, wklęsłe sutki oraz dysmorfie w postaci wydatnej zuchwy i dużych, nisko osadzonych dysplastycznych uszu. W okresie niemowlęcym dominuje zahamowanie wzrostu, wiotkość, zaburzenie fiksacji wzroku, oczopląs i zez [19,20]. U blisko połowy dzieci w tym okresie przeważają objawy narządowe.

Pacjenci, przed postawieniem rozpoznania byli kierowani do kliniki pediatrycznej z powodu biegunki, wymiotów, trudności z karmieniem, zahamowania rozwoju z niedoborem masy ciała i wzrostu, zapalenia osierdzia, tubulopatii, zespołu nerczycowego, enteropatii z utratą białka oraz niewydolności wątroby z hepatomegalią. Śmiertelność w grupie dzieci z objawami narządowymi wynosiła 50% [16]. U wszystkich pacjentów, obserwowano nieprawidłowe parametry krzepnięcia, głównie przedłużony APTT, obniżoną aktywność czynnika XI, AT III, białka C i białka S. Koagulopatia rzadko prowadziła do zakrzepicy albo krwawień. U wszystkich dzieci podwyższone były aminotransferazy. Ich aktywności przekraczały 2–30-krotnie zakresy wartości referencyjnych, były wysokie w okresie noworodkowym i niemowlęcym, normalizowały się w 5–7 roku życia i osiągały najwyższe wartości podczas epizodów gorączkowych. U większości dzieci nie obserwowano cech cholestazy. U wszystkich pacjentów z wielonarządową postacią choroby występowało powiększenie wątroby. W postaci neurologicznej hepatomegalię obserwowano tylko u części pacjentów. W badaniach biopsyjnych wątroby przeprowadzonych u dzieci w różnym wieku obserwowano zmiany histologiczne o zróżnicowanym stopniu nasilenia w postaci zapalenia okołowrotnego z obecnością komórek jednojądrzastych, zwłóknienia, stłuszczenia, zwłóknienia z towarzyszącym stłuszczeniem a także zwłóknienia z cechami marskiej przebudowy narządu [16,21–23]. Zmiany te nie postępowały i w żadnym przypadku nie prowadziły do pełnego obrazu marskości wątroby. Obraz w mikroskopie elektronowym był bardziej charakterystyczny a nieprawidłowości występowały głównie w obrębie lizosomów hepatocytów. Lizosomy zawierały blaszkowato-błoniaste wręty definiowane jako ciała mieloidalne albo mielinosomy (*myeloid body, myelinosomes*), podobne do struktur obserwowanych w chorobie Niemann-Picka typu C [21,24–26]. Tego rodzaju zmiany występowały również w innych defektach wczesnych etapów N-glikozylacji (CDG-Ic, If i Ix), nie były obecne w fibroblastach ani nie występowały w CDG typu II [25,26].

Stalą cechą biochemiczną deficytu PMM jest obecność nieprawidłowych izoform wielu glikoprotein surowicy. Poza transferyną, dotyczy to również α 1-antytrypsyny, α 1-kwaśnej glikoproteiny, ceruloplazminy, α 1-antychymotrypsyny, ferrytyny, składników dopełniacza, ATIII i TBG. Obniżonej glikozylacji glikoprotein często towarzyszy ich obniżony poziom w surowicy. Niektóre glikoproteiny surowicy wykazują podwyższone stężenia. Do tej grupy należą hormony przysadki, TSH, FSH, oraz enzymy lizosomalne [19,27]. W wielu przypadkach obserwowano obniżony poziom albuminy, która nie jest glikoproteiną. Hipoalbuminemia nie była związana z biegunką, enteropatią sekrecyjną, zespołem nerczycowym czy obrzękami. Innymi nieprawidłowościami biochemicznymi to obniżone poziomy metali (Cu, Fe, Zn), lipidów i lipoprotein (cholesterol, apoB) oraz podwyższone stężenia, insuliny bez hipoglikemii i hormonu wzrostu z niedoborem wzrostu [19]. Wartości%CDT pozostawały w szerokim zakresie przekraczając 5–11 razy zakres normy i korelowały z ciężkością przebiegu choroby [12].

Deficyt izomerazy fosfomannozy (deficyt PMI, CDG-Ib, OMIM 602579)

Izomeraza jest enzymem cytoplazmatycznego szlaku syntezy GDP-mannozy. Enzym bezpośrednio poprzedza PMM i katalizuje konwersję fruktozo-6-P do mannozo-6-P. Man-6-

P może być syntetyzowany nie tylko z substratów szlaku glikolizy ale także przez bezpośrednią fosforylację egzogennej mannozy. Omijanie bloku metabolicznego poprzez podawanie pacjentom mannozy stanowi podstawę leczenia choroby [28–30].

Deficyt PMI jest chorobą rzadko rozpoznawaną. Od czasu wykrycia pierwszych przypadków w 1998 roku opisano zaledwie 20 pacjentów z niedoborem enzymu, ale wydaje się, że choroba nie jest rozpoznawana ze względu na niespecyficzne objawy kliniczne [28,31–33].

Obraz kliniczny CDG Ib jest zróżnicowany. Choroba może przebiegać łagodnie i ustępować samoistnie nawet bez leczenia mannozą a jedynymi objawami są powtarzające się w okresie niemowlęcym i w dzieciństwie wymioty i biegunka prowadzące do odwodnień. W większości przypadków o łagodnym przebiegu wątroba jest powiększona. Podwyższona, w różnym stopniu, jest aktywność aminotransferaz a ich poziom znacząco wzrasta podczas towarzyszących chorób infekcyjnych [31,33]. Obraz kliniczny deficytu PMI u pacjentki opisanej przez autorów francuskich dominowała, widoczna od 3-ego roku życia, hepatomegalia z prawidłową aktywnością aminotransferaz, której towarzyszyła hipoglikemia z podwyższonym poziomem insuliny [34]. Hipoglikemia obserwowana również u innych pacjentów odpowiadała na glukagon a poziom insuliny obniżał się w trakcie leczenia diazoksydem [16,34,35]. Ciężki przebieg choroby, prowadzący nawet do zgonów w wieku od 4 miesięcy do 6 lat pacjentów nie leczonych mannozą, charakteryzowały: niedobór masy ciała i wzrostu biegunka sekrecyjna nie poddają się leczeniu, wymioty, enteropatia z utratą białka i wodobrzusze, hepatomegalia z wysoką aktywnością aminotransferaz, hipoglikemia z podwyższonym poziomem insuliny oraz zaburzenia krzepnięcia z zakrzepicą i krwotokami o różnej lokalizacji z niską aktywnością czynników krzepnięcia, ATIII, białka S i białka C. [16,28,33,35–37]. U pacjentów z ciężkim przebiegiem choroby w wątrobie stwierdzano zwłóknienie, stłuszczenie oraz cechy marskiej przebudowy narządu [16]. W cięższych przypadkach obraz histologiczny przypominał wrodzone zwłóknienie z obecnością przebudowy i proliferacji przewodów żółciowych (*ductal plate malformation*), ale tylko z nieznacznym wzrostem tkanki łącznej w obrębie dróg wrotno-żółciowych. Obserwowano również stłuszczenie oraz ogniska powielonych przewodów żółciowych przypominających kompleksy Meyenburga (zmiany hamartomatyczne obserwowane w torbielowatości wątroby) [23,33]. W mikroskopie elektronowym, podobnie jak w deficycie PMM, w lizosomach hepatocytów widoczne były błoniasto-blaszkowate wtręty [21,29]. Badania biopsyjne i/albo autopsyjne jelita cienkiego i okrężnicy pacjentów o ciężkim przebiegu choroby wykazywały zanik kosmków jelitowych sugerujący celiakię, torbielowate rozdęcie krypt z zanikiem albo całkowitym brakiem nabłonka błony śluzowej, nacieki zapalne oraz poszerzenie naczyń chłonnych błony śluzowej [28,29,33,37]. W enterocytach, w mikroskopie elektronowym, obserwowano w obrębie poszerzonego retikulum endoplazmatycznego złogi o wyglądzie pęczków rurek, które uznano za precypitat nieprawidłowych glikoprotein [32]. Część pacjentów jest skutecznie leczona doustnie podawaną mannozą w dawkach 100–200 mg/kg 3–6 × dziennie. Objawy kliniczne ustępowały już po kilku tygodniach leczenia a po kilku miesiącach normalizowała się większość parametrów biochemicznych [29,30,33].

Deficyt alfa 1,3 glukozylotransferazy (hALG6, CDG-Ic, OMIM 603147)

Glukozylotransferaza przenosi pierwszą resztę glukozy na LLO w świetle ER. Niedobór enzymu prowadzi do syntezy nieprawidłowych LLO pozbawionych trzech reszt glukozy. Nieprawidłowe LLO są suboptymalnym substratem dla OST co prowadzi do niedoboru całych N-glikanów na białku [38].

Rozpoznano ponad trzydzieści przypadków deficytu glukozylotransferazy. Choroba z przewagą objawów neurologicznych przypomina CDG-Ia, ale u większości pacjentów ma łagodniejszy przebieg. Przeważa opóźnienie rozwoju psychoruchowego, hipotonia mięśniowa oraz epizody drgawek. U części noworodków widoczna jest nieznaczna dysmorfia twarzy: szeroka nasada nosa, wysokie czoło i duże, nisko osadzone uszy. Nie obserwowano typowych dla CDG-Ia zmian w tkance tłuszczowej. Niemowlęta wykazywały trudności z karmieniem, u wszystkich występował zez zbieżny, u części podwyższone były aminotransferazy, szczególnie podczas infekcji, z wartościami AST do 2000 U/L i ALT do 500. U większości pacjentów nie obserwowano neuropatii obwodowej, zmian w siatkówce, zaniku mózdzku, powiększenia wątroby i innych zaburzeń narządowych [39]. W kilku przypadkach choroba miała ciężki przebieg prowadzący do zgonu z powodu zaburzeń krzepnięcia i nie poddającym się leczeniu napadom padaczkowym [40]. Choroba może mieć również przebieg nietypowy. Pierwszym objawem u trojga niemowląt była nawracająca enteropatia z utratą białka występująca po epizodach nieżyty żołądkowo-jelitowego [21,41]. Badanie histologiczne biopsji jelita cienkiego wykazało brak siarczanu heparanu na boczno-podstawnej powierzchni enterocytów. Zmiany ograniczone były wyłącznie do jelita cienkiego i nie występowały w okrężnicy, żołądku i przelyku. Autorzy opisu wskazują na niedobór proteoglikanów z siarczanem heparanu na błonach enterocytów jelita cienkiego pacjenta jako na bezpośrednią przyczynę enteropatii [41].

Deficyt α 1,3-glukozylotransferazy (ALG 8, CDG-Ih, OMIM 608104)

Glukozylotransferaza dodaje drugą resztę glukozy do LLO w świetle ER. Niedobór enzymu, prowadzi do syntezy mniejszych LLO, które nieefektywnie glikozylują białko [42].

Opisano zaledwie czterech pacjentów z deficytem enzymu. Obraz kliniczny charakteryzuje brak objawów ze strony układu nerwowego, dysmorfia, zaburzenia układu sercowo-naczyniowego z obrzękami i zaburzeniami elektrolitowymi oraz objawy wątrobowo-jelitowe z enteropatią z utratą białka przypominające CDG-Ib. Z czworga dzieci, troje zmarło w wieku kilku dni albo miesięcy z powodu niewydolności oddechowo-krążeniowej z zaburzeniami gospodarki elektrolitowej i uogólnionymi obrzękami. Badanie sekcyjne przeprowadzone u dziecka w wieku 3 miesięcy wykazało niedorozwój płuc, torbielowate poszerzenie zewnątrz- i wewnątrz-wątrobowych przewodów żółciowych, cechy cholestazy oraz obecność mikrocyt w nerkach. Pomocne w różnicowaniu z CDG-Ib mogą być cechy dysmorfii, występujące w różnych konstatacjach jak: wysokie czoło i/albo asymetryczna czaszka, szpary powiekowe skierowane do dołu, nisko osadzone uszy, hiperteloryzm, krótka szyja, duże, niezarośnięte ciemiączko, wnetrostwo, kampaktylia i nieprawidłowa budowa stóp. U wszystkich dzieci stwierdzono hypoalbuminemię, obniżo-



ną aktywność czynników krzepnięcia, anemię i zaburzenia elektrolitowe. U trojga dzieci obserwowano trombocytopenię, u dwojga obniżony poziom T4 a u jednego obniżone poziomy TBG, ceruloplazminy i α 1-antytrypsyny. Próby leczenia choroby mannozą nie powiodły się [42,43].

Wrodzone zaburzenia glikozylacji o nieustalonej przyczynie (CDGx)

Liczba przypadków z dobrze udokumentowanym biochemicznie zaburzeniem glikozylacji ale o nieustalonej przyczynie stale rośnie i tylko mała ich część jest publikowana. Pacjenci zgodnie z obowiązującą nomenklaturą, na podstawie analizy struktury transferyny, zaliczani są do I albo II typu CDG (CDG-Ix, CDG-IIx) (5). Pacjenci, u których hipoglikozylacji transferyny towarzyszy obniżenie O-glikozylacji oceniane na podstawie analizy wzoru izoform apolipoproteiny C-III, są klasyfikowani jako złożony defekt glikozylacji [44].

Fenotyp tej grupy chorych jest ogromnie zróżnicowany. Obejmuje objawy, odchylenia i nieprawidłowości opisywane w już znanych defektach glikozylacji, nowe, nieopisane prezentacje kliniczne a uszkodzenie wątroby stanowi ważny jego składnik. Poniżej przedstawiamy kilka przykładów zaburzeń glikozylacji o nieustalonej przyczynie z przewagą cech uszkodzenia wątroby.

Menton i współpracownicy opisali pacjenta z przewlekłą biegunką sekrecyjną w okresie noworodkowym, cechami dysmorfii, hipotonią, hepatosplenomegalią, trombocytopenią i nieprawidłowymi parametrami układu krzepnięcia. Pacjent zmarł w wieku 2 lat z powodu niewydolności wątroby. Izoforny transferyny sugerowały rozpoznanie typu I CDG [45].

Autorzy pracy we własnym materiale obserwowali złożony defekt N- i O-glikozylacji u 12 letniego chłopca z fenotypem klinicznym i biochemicznym naśladującym wczesną wątrobową postać choroby Wilsona. Na rozpoznanie wskazywały cechy przewlekłego zapalenia wątroby, nieprawidłowe parametry metabolizmu miedzi, niski poziom ceruloplazminy i Cu w surowicy, oraz podwyższone wydalanie Cu z moczem. Rozpoznanie choroby Wilsona było kwestionowane z powodu nietypowej odpowiedzi na rutynowe leczenie cynkiem, braku mutacji w genie *ATP7B* mimo poszukiwania mutacji metodą sekwencjonowania genu oraz zawartości miedzi w tkance wątrobowej poniżej wartości dyskryminacyjnej dla choroby Wilsona (pacjent 131 μ g/g, chorzy >250). Również nietypowy dla choroby Wilsona był wysoki poziom cholesterolu w surowicy. W trakcie leczenia obserwowano zmiany zwyrodnieniowe stawów biodrowych z zaburzeniami chodu i epizod niedokrwiistości, co skłoniło do dalszego poszukiwania przyczyn choroby. Obserwowane niezgodności wyjaśniła analiza izoform transferyny. Wzór izoform typu 2 sugerował defekt późnych etapów N-glikozylacji. Analiza izoform apoC-III, wykazała również obniżenie O-glikozylacji. Na tej podstawie rozpoznano złożony defekt N- i O-glikozylacji. W badaniu histologicznym wątroby obserwowano cechy nieznacznie gołstuszczenia, w mikroskopie elektronowym widoczne było poszerzenie cystem aparatu Golgiego na biegunach żółciowych hepatocytów [46]. Podobny fenotyp naśladujący wczesną postać choroby Wilsona, przedstawiła Mandato [47]. Nieprawidłowy wzór izoform transferyny z podwyższonymi frakcjami trisjalo- i disjalo- u brata i siostry był identyczny jak u własnego pacjenta. U dzieci stwierdzo-

no również obniżoną glikozylację apoC-III, oraz podwyższony poziom cholesterolu. Zawartości miedzi w tkance wątrobowej odpowiadały rozpoznaniu choroby Wilsona. Choroba wątroby nie postępowała, wraz z wiekiem uległy normalizacji parametry uszkodzenia wątroby. Mandato sugeruje występowanie u rodzeństwa nieznanego defektu transportu w obrębie aparatu Golgiego zaburzającego późne etapy N-glikozylacji, O-glikozylację, metabolizm miedzi i metabolizm cholesterolu. Autorka przedstawia także dwójkę innych dzieci z przewlekłym zapaleniem wątroby o łagodnym przebiegu i niewyjaśnionym defektem N- i O-glikozylacji. W pierwszych latach życia rozpoznano łagodną hipertransaminazemię, której towarzyszyło nieznaczne obniżenie poziomów alfa1-AT, ceruloplazminy i haptoglobiny oraz cechy koagulopatii z przedłużonym czasem protrombinowym, APTT i obniżonymi aktywnościami wielu czynników krzepnięcia. Badanie histologiczne wątroby wykazało stłuszczenie i zwłóknienie [47].

Hepatopatia stanowi ważny składnik złożonego obrazu klinicznego u innego dziecka ze wstępnym rozpoznaniem CDGx z własnego materiału. Fenotyp kliniczny obejmuje sekwencję Pierre Robina, przewlekłe zapalenie wątroby i kardiomiopatię rozstrzeniową. Obserwowano obniżony poziom α 1-antytrypsyny sugerujący genetyczny niedobór oraz stężenie ceruloplazminy na dolnej granicy normy (15 mg/l, [ref. 15–60]) z towarzyszącym obniżeniem poziomu miedzi w surowicy (43 μ g/dl, [ref. 70–140]) co sugerowało rozpoznanie choroby Wilsona. Obraz histologiczny wątroby nie był specyficzny. W kolejnych badaniach obserwowano cechy stłuszczenia prostego, skąpe naciski limfoidalne, cholestazę o małym nasileniu oraz zgrupowania hepatocytów o jasnej cytoplazmie bogatej w glikogen poddający się trawieniu diastazą. Elektroogniskowanie transferyny wykazało znaczną hipoglikozylację. Występował typ 2 izoform transferyny sugerujący defekt późnych etapów glikozylacji. Potwierdziła to analiza izoform α 1-antytrypsyny. Badanie struktury transferyny metodą spektrometrii masowej (LC-MS) wskazało natomiast na niedobór całych glikanów na transferynie. Dane te sugerują obecność defektu, który zaburza zarówno wczesne jak i późne etapy N-glikozylacji.

Galaktozemia klasyczna (deficyt urydylilotransferazy galaktozo-1-fosforanowej, deficyt GALT, OMIM 230400)

Klasyczna galaktozemia wydaje się być dobrze poznaną enzymopatią spowodowaną niedoborem GALT, drugiego enzymu na drodze metabolizmu endogennej galaktozy. Brak aktywności enzymu zatrzymuje metabolizm galaktozy na etapie galaktozo-1-fosforanu. Gal-1-P gromadzi się w komórkach większości tkanek a jego wysokie stężenie uważane jest za przyczynę większości nieprawidłowości biochemicznych. W komórkach chorych zwiększa się również stężenie galaktozy oraz produktów jej redukcji, galaktitolu oraz utleniania, kwasu galaktonowego. Galaktoza, galaktitol i kwas galaktonowy w odróżnieniu od Gal-1-P, łatwo przechodzą przez błony komórkowe i są wydalane z moczem.

W obrazie klinicznym klasycznej galaktozemii dominują cechy uszkodzenia wątroby. Pierwsze objawy występują zwykle już w 2–4 dobie życia dziecka po pierwszym karmieniu mlekiem. Przeważa żółtaczką, skaza krwotoczna, powiększenie wątroby albo hepatosplenomegalia, obrzęki. Zaburzeniom tym towarzyszą trudności z karmieniem, wymioty, biegun-

ka, sennaść, obniżone napięcie mięśniowe i brak przyrostu masy ciała. Objawy nasilają się wraz z upływem czasu i podają mleka i mogą prowadzić do zgonu jeżeli mleko nie zostanie odstawione w odpowiednim czasie. Może występować posocznica wywołana przez *E. coli*. Do stałych objawów okresu noworodkowego należą zaburzenia ze strony nerek, w postaci tubulopatii z uogólnioną aminoacydurią, glikozurią, galaktozurią, albuminurią, calciurią i kwasicą metaboliczną oraz narządu wzroku, w postaci zmętnienia soczewki albo pełnej zaćmy. Stałą cechą jest występowanie anemii hemolitycznej. Wyeliminowanie z diety galaktozy powoduje szybkie ustąpienie objawów oraz normalizuje większość parametrów biochemicznych. Leczenie nie prowadzi jednak do całkowitej normalizacji biochemicznej. Pomimo ściśle przestrzeganej diety niektóre parametry biochemiczne pacjentów jak stężenie Gal-1-P w krwinkach czerwonych, galaktitolu i kwas galaktonowego w moczu pozostają stale powyżej zakresu wartości prawidłowych. Choroba postępuje pomimo ustąpienia ciężkich objawów okresu noworodkowego po wprowadzeniu diety eliminacyjnej i u dużej części pacjentów przybiera postać łagodnej, przewlekłej choroby neurodegeneracyjnej z obecnością objawów mózdkowych i pozapiramidowych, zaburzeniem mowy i koordynacji wzrokowo-ruchowej. Objawom neurologicznym towarzyszy uszkodzenie gonady żeńskiej oraz obniżenie mineralizacji kośćca. Zaburzenia te zwykle nazywane są odległymi następstwami ciężkiej intoksykacji okresu noworodkowego, chociaż nie wydaje się to uzasadnione z powodu braku dowodów na związek wczesnych uszkodzeń ze zmianami w okresach późniejszych. Nieprawidłowe wyniki badań MRI i CT potwierdzają przyczyny zaburzeń neurologicznych wykazując zaniki kory w obrębie jąder podkorowych i pnia mózgu, nieprawidłowości w obrębie substancji białej, poszerzenie komór mózgu oraz hipoplazję mózdzku [48,49]. W badaniach autopsyjnych wykonanych u pacjentów zmarłych w wieku od 6 dni do 18 tygodni przeważała patologia wątroby w postaci marskości wrotnej ze stłuszczeniem [50]. Zmiany w wątrobie są odwracalne. Zaawansowane włóknienie wrotno-żółciowe z cechami marskości drobnoguzkowej i stłuszczeniem obserwowane u miesięcznego dziecka karmionego mlekiem całkowicie ustępowało po trzech miesiącach diety eliminacyjnej [51].

Badania ostatnich lat wykazały, że nasilenie wszystkich wyżej opisanych późnych objawów i zaburzeń u pacjentów z chorobą rozpoznaną w okresie noworodkowym i z właściwie prowadzoną dietą eliminacyjną nie koreluje z czynnikami uznawanymi wcześniej za prognostyczne jak czas rozpoczęcia leczenia i stężenie gal-1-P w krwinkach czerwonych. Pomimo licznych badań patomechanizm klasycznej galaktozemii nie został do końca wyjaśniony. W dalszym ciągu nie ma jasnej odpowiedzi jakie mechanizmy biochemiczne prowadzą do burzliwych objawów okresu noworodkowego i niemowlęcego ani nie są znane przyczyny późnych objawów, które występują pomimo prawidłowego leczenia [48]. Badania przeprowadzone w ostatnich latach na mysim modelu klasycznej galaktozemii, z uszkodzonym genem *GALT*, wykazały, że tkankowa akumulacja Gal-1-P nie jest warunkiem wystarczającym do wystąpienia objawów chorobowych. Myszy z brakiem aktywności *GALT* nie wykazywały objawów choroby, pomimo że gromadziły Gal-1-P w krwinkach czerwonych, komórkach wątroby, nerek i mózgu, w ilościach dużych, porównywalnych ze stężeniami obserwowanymi u chorych dzieci karmionych mlekiem [52]. Brak aktywności enzymatycznej *GALT* może nie być również wystarczającym warunkiem do

rozwoju choroby u człowieka. Opisano przypadki bezobjawowego deficytu *GALT* u ludzi pozostających na normalnej diecie [50,53]. Dane te wskazują, że defektu pojedynczego genu nie prowadzi do ujawnienia choroby jeżeli nie towarzyszą mu odpowiednie „warunki metaboliczne” wynikające z podłoża genetycznego, specyficznego dla gatunku a nawet pojedynczego organizmu w obrębie gatunku.

Rola glikozylacji w patomechanizmie galaktozemii nie była badana chociaż nieprawidłowości w glikozylacji lipidów i białek były znane od dawna. W tkance mózgowej zmarłych pacjentów obserwowano niedobór i nieprawidłową strukturę galaktolipidów [54], fibroblasty pacjentów wykazywały obniżoną galaktozylację białek [55], nieprawidłowe były izoformy enzymów lizosomalnych w surowicy [56]. Najbardziej spektakularnym dowodem wskazującym na obniżoną N-glikozylację glikoprotein w galaktozemii było wykazanie nieprawidłowości we wzorze izoform transferyny u niemowląt z pełnoobjawową postacią choroby pozostających na diecie mlecznej. Wzór izoform ze znacznie podwyższonymi frakcjami asjalo- i disjalo- był identyczny jak ich obraz w najcięższych postaciach wrodzonych zaburzeń glikozylacji I typu. Nieprawidłowy wzór izoform transferyny normalizował się po 1–2 tygodniach leczenia dietetycznego [10,12,14]. Nieprawidłowe izoformy wskazujące na obniżoną glikozylację obserwowano również w innych glikoproteinach surowicy syntetyzowanych przez wątrobę jak α 1AT a także FSH, glikoproteinie syntetyzowanej przez przysadkę. Nieprawidłowe izoformy FSH obserwowano u pacjentek leczonych, ze stężeniami gal-1-P wskazującymi na restrykcyjne przestrzeganie diety [57]. Analiza struktury transferyny metodą spektrometrii masowej pacjentów nie leczonych wykazała brak całych glikanów a także obecność glikanów pozbawionych końcowych reszt kwasu sialowego i galaktozy. Struktura transferyny normalizowała w trakcie leczenia dietetycznego [58]. Taki obraz pozwala uznać galaktozemię za genetycznie uwarunkowane zaburzenie glikozylacji, wtórne do pierwotnego defektu. Jaeken zaliczył klasyczną galaktozemię do wrodzonych zaburzeń glikozylacji biorąc pod uwagę podobieństwa fenotypów klinicznych i biochemicznych tych chorób sugerując udział hipoglikozylacji w patogenezie galaktozemii [56]. Wydaje się prawdopodobne, że hipoglikozylacja glikoprotein, która towarzyszy ciężkim objawom u dzieci pozostających na diecie mlecznej i ustępuje wraz z nimi w trakcie leczenia, odpowiada przynajmniej za część wczesnej, wielonarządowej patologii choroby. Zaburzona glikozylacja może również być podłożem późnych, neurologicznych objawów. Kwestie te, podobnie jak biochemiczny mechanizm odpowiadający za hipoglikozylację białek w galaktozemii, pozostają do ustalenia.

Nieprawidłowy wzór izoform transferyny w nie leczonej galaktozemii może być wykorzystany jako test diagnostyczny. Jest on szczególnie przydatny w sytuacji klinicznej kiedy dziecko miało przetoczoną krew i rutynowe oznaczenie aktywności *GALT* w erytrocytach nie jest diagnostyczne dając wynik „fałszywie” prawidłowy. W materiale autorów pracy %CDT jako laboratoryjny wskaźnik hipoglikozylacji, okazał się przydatny w rozpoznawaniu nie leczonej galaktozemii, jednak jego specyficzność była ograniczona wiekiem dziecka i rodzajem diety. Można uznać, że oznaczenie %CDT jest specyficzne dla galaktozemii jeżeli: a) jest wykonywane u dzieci w wieku ponad 8d. życia pozostających od urodzenia na diecie mlecznej, b) jest wykonywane co najmniej dwukrotnie, przed rozpoczęciem leczenia dietetycznego i po 7–10



dniach diety. Typ I wzoru izoform transferyny z podwyższoną wartością %CDT przed leczeniem dietetycznym i normalizacja wzoru izoform w trakcie diety sugeruje rozpoznanie galaktozemii. Transfuzja krwi przed badaniem nie ma wpływu na wartość diagnostyczną testu [12,14].

Wrodzona nietolerancja fruktozy (deficyt aldolazy fruktozo-1-fosforanowej, fruktozemia, HFI – hereditary fructose intolerance, OMIM 229600)

Wrodzona nietolerancja fruktozy jest spowodowana deficytem aldolazy B [59]. Enzym, specyficzny dla wątroby, jelita i nerek rozkłada fruktozo-1-P na dwie triozy, aldehyd glicero-owy i fosfodihydroksyaceton. Metabolity te wchodzi w cykl glikolizy i glukoneogenezy. W niedoborze aldolazy B, przy normalnej podaży fruktozy w diecie, w komórkach wątroby, nerek i jelit gromadzi się fruktozo-1-P zaburzając wiele szlaków metabolicznych. Fru-1-P hamuje glukoneogenezę i glikogenolizę. Prowadzi to do hipoglikemii nie reagującej na glukagon. Inhibicja glukoneogenezy jest również przyczyną akumulacji mleczanu, pirogronianu i alaniny co odpowiada częściowo za kwasicę metaboliczną i aminoacydurię. Jednak główną przyczyną kwasicy, aminoacydurii i innych objawów zespołu Fanconiego obserwowanych w nie leczonej fruktozemii jest zaburzenie transportu kanalikowego spowodowane niedoborami energetycznymi. Akumulacja fruktozo-1-fosforanu ma poważne konsekwencje energetyczne: 1) obniża się stężenie ATP w wyniku jego szybkiego zużycia do syntezy Fru-1-P, 2) obniża się poziom fosforanu nieorganicznego, który jest zatrzymywany w puli fosforylowanego cukru, 3) oraz, wtórnie, zmniejszeniu ulegają komórkowe zasoby nukleotydów adeninowych w wyniku nasilonego katabolizmu spowodowanego aktywacją deaminazy AMP poprzez obniżony poziom fosforu. Nadmierny katabolizm puryn prowadzi do hiperurikemii ale obserwowano także hipourikemię prawdopodobnie w wyniku tubulopatii [14]. Szybkie zużycie ATP po podaniu fruktozy jest przyczyną hipermagnezemii. Magnez pozostaje związany z ATP w stosunku ekwimolarnym i uwalnia się z kompleksu ATP-Mg w trakcie zużycia ATP w reakcjach fosforylacji [59]. Komórkowa akumulacja Fru-1-P okazała się również przyczyną obniżenia N-glikozylacji obserwowanego w nie leczonej fruktozemii. Fruktozo-1-P hamuje aktywność izomerazy fosfomannozowej obniżając syntezę GDP-mannozy [60].

Obraz kliniczny wrodzonej nietolerancji fruktozy przedstawia się następująco. Objawy występują w trakcie diety zawierającej fruktozę i mogą być dwójakiego rodzaju. W okresie niemowlęcym choroba może przybierać postać ostrego zespołu intoksykacji z bólem brzucha, wymiotami i objawami hipoglikemii, które pojawiają się w przeciągu minut po podaniu dziecku toksycznego cukru i mogą prowadzić do zgonu jeżeli fruktoza nie zostanie odstawiona. Częściej fruktozemia manifestuje się w okresie niemowlęcym jako zespół chronicznego zatrucia charakteryzujący się zahamowaniem rozwoju fizycznego, nawracającymi wymiotami, hepatomegalią oraz zaburzeniem funkcji wątroby i nerek. Często objawom ze strony wątroby i jelit towarzyszą krwawienia o różnej lokalizacji, rzadziej występuje skąpomocz, zaburzenia oddychania, stany gorączkowe i krzywica. Chore dzieci mogą rozwijać odruchową niechęć do słodkich pokarmów co w sposób naturalny chroni je przed występowaniem zagrażających objawów intoksykacji. U starszych dzieci i w okresach późniejszych objawy kliniczne mogą nie występować a choroba

przejawia się wyłącznie jako powiększenie wątroby z niedoborem wzrostu. Objawy, ich nasilenie i czas kiedy się pojawiają mogą być bardzo różne i zależą od ilości fruktozy w diecie i czasu kiedy cukier jest podawany [59]. Choroba jest trudna do rozpoznania na podstawie objawów klinicznych. Może naśladować objawy zżerzenia odźwiernika, przepuklinę rozworu przełykowego, zatrucie pokarmowe a także inne choroby metaboliczne jak zaburzenia beta-oksydacji i CDG [13,61,62].

Badania laboratoryjne wskazują na zaburzenie funkcji wątroby i uszkodzenie cewek nerkowych o charakterze zespołu Fanconiego. We krwi stwierdza się podwyższony poziom fruktozy, magnezu, kwasu mlekowego i alaniny oraz obniżone stężenie fosforu i glukozy. W moczu uogólnioną aminoacydurię, proteinurię, calciurię, fruktozurię i zwiększone wydalane dwuwęglanów [59,61].

Badania histopatologiczne wątroby u pacjentów nie leczonych wykazywały okołowrotne i wewnątrz-zrazikowe zwłóknienie, które prowadziło do marskości jeżeli dieta z dużą zawartością fruktozy była kontynuowana [63]. Zmiany w ultrastrukturze hepatocytów po obciążeniu fruktozą pojawiały się bardzo szybko. Już po dwóch godzinach widoczne były struktury przypominające cytolizosomy albo wakuole autofagocytarne [64].

Rozpoznanie fruktozemii początkowo opierało się na wynikach testów z doustnym albo dożylnym obciążeniem fruktozą. W teście doustnym pacjentom podawano 0,5 g fruktozy na kg masy ciała i mierzono przez okres 3 godzin, w odstępach półgodzinnych, stężenia fruktozy, glukozy, kwasu mlekowego, kwasu pirogronowego i fosforu. Podobna procedura obowiązywała w teście dożylnego obciążenia fruktozą. Chorzy z deficytem aldolazy B wykazywali spadek stężenia glukozy i fosforu oraz wzrost stężeń fruktozy, kwasu mlekowego i pirogronowego [65]. Ostatnio ze względu na zagrażającą życiu, ciężką hipoglikemię, która występuje po podaniu fruktozy testy z obciążeniem nie są zalecane. Uważa się, że nowoczesna diagnostyka fruktozemii, z powodu braku dostępu do prostych nieinwazyjnych testów diagnostycznych powinna opierać się na badaniach molekularnych. Jednak ze względu na występowanie w obrębie genu aldolazy B ponad czterdziestu różnych mutacji diagnostyka molekularna choroby następcza sporo trudności i nie jest powszechnie dostępna [66]. Wykrycie u pacjentów z nie leczoną fruktozemią nieprawidłowego wzoru izoform transferyny zwróciło uwagę na możliwość zastosowania IEF transferyny w diagnostyce laboratoryjnej choroby [11,14]. Obraz nieprawidłowych izoform nie różnił się od wzorów w typie I CDG i galaktozemii oraz podobnie jak w galaktozemii, normalizował się w trakcie leczenia dietą eliminacyjną. Jednak całkowita normalizacja następowała po dłuższym czasie leczenia niż w galaktozemii (3–4 tygodnie) i nie obejmowała wszystkich pacjentów. U części pacjentów podwyższone wartości %CDT, nawet do 20%, utrzymywały się w trakcie leczenia [12,14].

Niedobór N-glikozylacji w patogenezie fruktozemii nie był brany pod uwagę, chociaż jego rola wydaje się istotna. Na poziomie biochemicznym fruktozemia jest wtórnym, zależnym od diety deficytem PMI, który jest zaliczany do grupy CDG jako podtyp Ib. Podobne w obu chorobach są objawy kliniczne i nieprawidłowości biochemiczne. Na tej podstawie wydaje się uzasadnione uznanie hipoglikozylacji glikoprotein za jeden z elementów złożonego patomechanizmu wrodzonej nietolerancji fruktozy.

Uwagi końcowe

Jak wynika z powyżej przedstawionych przykładów wrodzone niedobory glikozylacji białek spowodowane defektami enzymatycznymi na drodze syntezy N-glikanów zaburzają funkcje wielu układów i narządów. Uszkodzenie wątroby stanowi ważny element złożonej patologii tych chorób. Niespecyficzne objawy ze strony przewodu pokarmowego i wątroby z niedoborem masy ciała i wzrostu są często pierwszą manifestacją choroby i chore dzieci często trafiają na oddziały gastroenterologiczne. Inne objawy narządowe oraz objawy ze strony układu nerwowego mogą być widoczne później. Uszkodzenie wątroby w CDG jest bardzo różnicowane, począwszy od ciężkiej niewydolności o śmiertelnym przebiegu po obraz przewlekłego zapalenia ustępującego wraz z wiekiem. Przewlekłe zapalenie wątroby z obniżonym poziomem ceruloplazminy i/ albo α 1-antytrypsyny może sugerować rozpoznanie wczesnej postaci choroby Wilsona albo deficyt alfa1-antytrypsyny.

Przyczyną klasycznej galaktozemii i wrodzonej nietolerancja fruktozy są wczesne defekty metabolizmu cukrów. Obecność toksycznych dla chorych cukrów w diecie powoduje akumulację pośrednich metabolitów zaburzających wiele szlaków metabolicznych w tym glikozylację białek. Konsekwencją tych zaburzeń jest wielonarządowa patologia z dominacją cech uszkodzenia komórki wątrobowej.

Ponieważ obniżenie glikozylacji białek jest istotą patologii w CDG, wydaje się bardzo prawdopodobne, że niedobór glikozylacji w galaktozemii i fruktozemii, chociaż wtórny do pierwotnych defektów, jest ważnym komponentem złożonego patomechanizmu tych chorób.

Oznaczanie izoformy transferyny, powszechnie wykorzystywane do rozpoznawania większości wariantów CDG, może być również pomocne w rozpoznawaniu galaktozemii i fruktozemii. Wydaje się uzasadnione oznaczanie izoform transferyny we wszystkich przypadkach chorób wątroby o niewyjaśnionej etiologii, szczególnie jeżeli towarzyszą im objawy, odchylenia czy nieprawidłowości ze strony innych narządów i układów. W praktyce klinicznej w diagnostyce różnicowej CDG należy uwzględnić galaktozemie i fruktozemie.

Chociaż oznaczenie izoform transferyny może być uznane za wstępne badanie w kierunku CDG, nie obejmuje ono wszystkich podtypów i w przypadku niejasnego przebiegu choroby należy rozważyć wykonanie specjalistycznych badań dodatkowych jak analiza profilu oligosacharydów moczu metodą TLC (diagnostyka CDG-IIb) czy też ocena fukozylacji i sjalizacji glikoprotein błony leukocytów przy wykorzystaniu cytometrii przepływowej (diagnostyka CDG-IIc, CDG-IIf).

Piśmiennictwo:

1. Kornfeld R, Kornfeld S: Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. *Annu Rev Biochem*, 1985; 54: 631
2. Van den Steen P, Rudd PM, Dwek RA, Opendakker G: Concepts and principles of O-linked glycosylation. *Crit Rev Biochem Mol Biol*, 1998; 33: 151
3. Varki A: Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct. *Glycobiology*, 1993; 3: 97
4. Marek KW, Vijay IK, Marth J: A recessive deletion in the GlcNAc-1-phosphotransferase gene results in peri-implantations embryonic lethality. *Glycobiology*, 1999; 9: 1263
5. Participants: of the 1st International Workshop on CDG: Carbohydrate-deficient glycoprotein syndromes become congenital disorders of glycosylation: an updated nomenclature for CDG. *Glycobiology*, 2000, 10, III
6. Freez H: Genetic defects in the human glycome. *Nat Rev Genet*, 2006; 7: 537
7. Jaeken J, Matthijs G: Congenital disorders of glycosylation: a rapidly expanding disease family. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2007; 8: 261
8. Marquard T, Denecke J: Congenital disorders of glycosylation: review of their molecular bases, clinical presentation and specific therapies. *Eur J Pediatr*, 2003; 162: 359
9. Stibler H: Carbohydrate-deficient transferrin in serum: A new marker of potentially harmful alcohol consumption reviewed. *Clin Chem*, 1991; 37: 2029
10. Spaapen; Jaeken J, Carchon H, Stibler H, 1993; LJM, Vulmsa T, Theunissen PMVM, van der Meer SB, Jaeken J: Galactosaemia, a carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome. SSIEM, 30th Annual Symposium, Leuven, Sept. 8-11, 1992 (abstr.), 8
11. Adamowicz M, Pronicka E: Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome-like transferrin isoelectric focusing pattern in untreated fructosaemia. *Eur J Pediatr*, 1996; 155: 347
12. Adamowicz M: Przydatność izoform transferyny w rozpoznawaniu wrodzonych zaburzeń glikozylacji (CDG) oraz galaktozemii i fruktozemii. Praca doktorska, AM Warszawa, 2007
13. Adamowicz M, Płoski R, Rokicki D i wsp: Transferrin hypoglycosylation in hereditary fructose intolerance: using the clues and avoiding the pitfalls. *J Inherit Metab Dis*, 2007; 30: 407
14. Pronicka E, Adamowicz M, Kowalik A i wsp: Increased serum carbohydrate deficient transferrin (CDT%) and its normalisation on dietary treatment as useful biochemical testing for fructosaemia and galactosaemia. *Pediatr Res*, 2007; 62: 101
15. Brionez P, Vilaseca MA, Schollen E i wsp: Biochemical and molecular studies in 26 Spanish patients with congenital disorder of glycosylation type Ia. *J Inherit Metab Dis*, 2002; 25: 635
16. De Lonlay P, Seta N, Barrot S i wsp: A broad spectrum of clinical presentations in congenital disorders of glycosylation I: a series of 26 cases. *J Med Genet*, 2001; 38: 14
17. Di Rocco M, Barone R, Adami A i wsp: Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome: the Italian experience. *J Inherit Metab Dis*, 2000; 23: 391
18. Erlandson A, Bjursell C, Stibler H i wsp: Scandinavian CDG-Ia patients: genotype/phenotype correlation and geographic origin of founder mutations. *Hum Genet*, 2001; 108: 359
19. Jaeken J, Matthijs G, Barone R, Carchon H: Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. *J Med Genet*, 1997; 34: 73
20. Jaeken J, Stibler H, Hagberg B: The Carbohydrate-deficient Glycoprotein Syndrome. A new inherited multisystemic disease with severe nervous system involvement. *Acta Paediatr Scand*, 1991; 375(Suppl.): 1
21. Damen G, de Klerk H, Huijms J i wsp: Gastrointestinal and other clinical manifestations in 17 children with congenital disorders of glycosylation type Ia, Ib, and Ic. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1999; 29: 104
22. Kristiansson B, Borulf S, Conradi N i wsp: Intestinal, pancreatic and hepatic involvement in carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1998; 27: 23
23. Zentilin Boyer M, de Lonlay P, Seta N i wsp: Hypotrophie et manifestation digestives des desordres congénitaux de la glycosylation. *Archives de Pédiatrie*, 2003; 10: 590
24. Conradi N, de Vos R, Jaeken J i wsp: Liver pathology in the carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome. *Acta Paediatr Scand*, 1991; Suppl. 375: 50
25. Grünwald S, de Vos R, Jaeken J: Abnormal lysosomal inclusions in liver hepatocytes but not in fibroblasts in congenital disorders of glycosylation (CDG). *J Inherit Metab Dis*, 2003; 26: 49
26. Iancu TC, Mahajnah M, Manov I i wsp: The liver in congenital disorders of glycosylation: ultrastructural features. *Ultrastruct Pathol*, 2007; 31: 189
27. Barone R, Carchon H, Jansen E i wsp: Lysosomal enzyme activities in serum and leukocytes from patients with carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I A (phosphomannose deficiency). *J Inherit Metab Dis*, 1998; 21: 167
28. Jaeken J, Matthijs G, Saudubray JM i wsp: Phosphomannose isomerase deficiency: a carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome with hepato-intestinal presentation. *Am J Hum Genet*, 1998; 62: 1535



29. Harms HK, Zimmer K-P, Kurnik K i wsp: Oral mannose therapy persistently corrects the severe clinical symptoms and biochemical abnormalities of phosphomannose isomerase deficiency. *Acta Paediatr*, 2002; 91: 1065
30. Hendriksz CJ, McClean P, Henderson MJ i wsp: Successful treatment of carbohydrate deficient glycoprotein syndrome Ib with oral mannose. *Arch Dis Child*, 2001; 85: 339
31. De Koning TJ, Nikkels PGJ, Dorland L i wsp: Congenital hepatic fibrosis in 3 siblings with phosphomannose isomerase deficiency. *Virchows Arch*, 2000; 437: 101
32. Niehues R, Hasilik M, Alton G i wsp: Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type Ib. Phosphomannose isomerase deficiency and mannose therapy. *J Clin Invest*, 1998; 101: 1414
33. Westphal V, Kjaergaard S, Davis JA i wsp: Genetic and metabolic analysis of the first adult with congenital Disorder of glycosylation type Ib: long-term outcome and effects of mannose supplementation. *Mol Genet Metab*, 2001; 73: 77
34. Penel-Capelle D, Dobbelaere D, Jaeken J i wsp: Congenital disorder of glycosylation Ib (CDG-Ib) without gastrointestinal symptoms. *J Inher Metab Dis*, 2003; 26: 83
35. Babovic-Vuksanovic D, Patterson MC, Schwenk WF i wsp: Severe hypoglycemia as a presenting symptom of carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome. *J Pediatr*, 1999; 135: 755
36. Pedersen PS, Tygstrup I: Congenital hepatic fibrosis combined with protein-losing enteropathy and recurrent thrombosis. *Acta Paediatr Scand*, 1980; 69: 571
37. Pelletier V, Galeano N, Brochu P i wsp: Secretory diarrhea with protein-losing enteropathy, enterocolitis cystica superficialis, intestinal lymphangiectasia, and congenital hepatic fibrosis: a new syndrome. *J Pediatr*, 1986; 108: 61
38. Imbach T, Burda P, Kuhnert P i wsp: A mutation in human ortholog of the *Saccharomyces cerevisiae* ALG6 gene causes carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type I-c. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999; 96: 6982
39. Grünwald S, Imbach T, Huijben K i wsp: Clinical and biochemical characteristics of congenital disorders of glycosylation type Ic, the first recognized endoplasmic reticulum defect in N-glycan synthesis. *Ann Neurol*, 2000; 47: 776
40. Grünewald S, Matthijs G, Jaeken J: Congenital disorders of glycosylation. A review. *Pediatr Res*, 2002; 52: 618
41. Westphal V, Murch S, Kim S i wsp: Reduced heparan sulfate accumulation in enterocytes contributes to protein-losing enteropathy in a congenital disorder of glycosylation. *Am J Pathology*, 2000; 157: 1917
42. Chantret I, Dancourt J, Dancourt J i wsp: A deficiency in dolichyl-P-glucose: Glc1Man9GlcNAc2-PP-dolichyl-3-glucoyltransferase defines a new subtype of congenital disorders of glycosylation. *J Biol Chem*, 2003; 278: 9962
43. Schollen E, Frank CG, Keldermans L i wsp: Clinical and molecular features of three patients with congenital disorders of glycosylation type Ih (CDG-Ih) (ALG8 deficiency). *J Med Genet*, 2004; 41: 550
44. Wopereis S, Morava E, Coucke P i wsp: Defective protein glycosylation in patients with cutis laxa syndrome. *Eur J Hum Genet*, 2005; 13: 414
45. Menton K, Michaud L, Dobbelaere D i wsp: Neonatal severe intractable diarrhoea as the presenting manifestation of an unclassified congenital disorder of glycosylation (CDG-x). *Arch Dis Child*, 2001; 85: F217
46. Adamowicz M, Socha P, Rokicki D i wsp: A combined defect of N- and O-glycosylation in 12 years old boy with Wilson's disease phenotype. *J Inher Metab Dis*, 2005; 28(Suppl.1): 203
47. Mandato C, Brive L, Miura Y i wsp: Cryptogenic liver disease in four children: a novel congenital disorder of glycosylation. *Pediatr Res*, 2006; 59: 293
48. Bosch AM: Classical galactosaemia revisited. *J Inher Metab Dis*, 2006; 29: 516
49. Holton JB, Walter JH, Tyfield LA: Galactosemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (red.). *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. 8th edn. New York: McGraw-Hill, 2001; 1553
50. Hsia DY, Walker FA: Variability in the clinical manifestation of galactosemia. *J Pediatr*, 1961; 59: 872
51. Applebaum MN, Thaler MM: Reversibility of extensive liver damage in galactosemia. *Gastroenterology*, 1975; 69: 496
52. Ning C, Reynolds R, Chen J i wsp: Galactose metabolism in mice with galactose-1-phosphate uridylyltransferase deficiency: sucklings and 7-week old animals fed a high-galactose diet. *Mol Genet Metab*, 2001; 72: 306
53. Panis B, Bakker JA, Sels J-PJE i wsp: Untreated classical galactosemia patient with mild phenotype. *Mol Genet Metab*, 2006; 89: 277
54. Haberland C, Perou M, Brunngraber EG, Hof H: The neuropathology of galactosemia. A histopathological and biochemical study. *J Neuropathol Exp Neurol*, 1971; 30: 431
55. Ornstein KS, McGuire EJ, Berry GT i wsp: Abnormal galactosylation of complex carbohydrates in cultured fibroblasts from patients with galactose-1-phosphate uridylyltransferase deficiency. *Pediatr Res*, 1992; 31: 508
56. Jaeken J, Kint J, Spaepen L: Serum lysosomal enzyme abnormalities in galactosaemia. *Lancet*, 1992; 340(12): 1472
57. Prestoz LLO, Couto AS, Shin YS, Petry KG: Altered follicle stimulated hormone isoforms in female galactosemia patients. *Eur J Pediatr*, 1997; 156: 116
58. Sturiale L, Barone R, Fiumara A i wsp: Hypoglycosylation with increased fucosylation and branching of serum transferrin in untreated galactosemia. *Glycobiology*, 2005; 15: 1268
59. Steinmann B, Gitzelmann B, Van den Berghe G: Disorders of fructose metabolism. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (red.). *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. 8th edn. New York: McGraw-Hill, 2001; 1489
60. Jaeken J, Pirard M, Adamowicz M i wsp: Inhibition of phosphomannose isomerase by fructose-1-phosphate: an explanation for defective N-glycosylation in hereditary fructose intolerance. *Pediatr Res*, 1996; 40: 764
61. Baerlocher K, Gitzelmann R, Steinmann B, Gitzelmann-Cumarasamy N: Hereditary fructose intolerance in early childhood: a major diagnostic challenge. *Helv Paediatr Acta*, 1978; 33: 465
62. Stormon MO, Cutz E, Furuya K i wsp: A six-month-old infant with liver steatosis. *J Pediatr*, 2004; 144: 258
63. Odièvre M, Gautier M, Rieu D: Intolerance héréditaire au fructose du nourisson. Evolution des lésions histologiques hépatiques sous traitement diététique prolongé (étude de huit observations). *Arch F Pediatr*, 1969; 26: 433
64. Phillips MJ, Little JA, Ptak TW: Subcellular pathology of hereditary fructose intolerance. *Am J Med*, 1968; 44: 910
65. Steinmann B, Gitzelmann R: The diagnosis of hereditary fructose intolerance. *Helv Paediatr Acta*, 1981; 36: 297
66. Gruchota J, Pronicka E, Korniszewski L i wsp: Aldolase B mutations and prevalence of hereditary fructose intolerance in Polish population. *Mol Genet Metab*, 2006; 87: 376